FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1967

N° 395

THÈSE

POUR LE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Mention Médecine)

PAR

ÉTÉMADI Abol-Hassan
né le 8 décembre 1930 à RECHT (Iran)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT
LE 12 MAI 1967

CORRÉLATIONS STRUCTURALES ET BIOGÉNÉTIQUES DES ACIDES MYCOLIQUES EN RAPPORT AVEC LA PHYLOGENÈSE DE QUELQUES GENRES D'ACTINOMYCÉTALES

PRÉSIDENT : Monsieur Jacques POLONOVSKI, Professeur

MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS-VIe
1967

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1967 N°

THÈSE

POUR LE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Mention Médecine)

PAR

ÉTÉMADI Abol-Hassan
né le 8 décembre 1930 à RECHT (Iran)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT
LE 12 MAI 1967

CORRÉLATIONS STRUCTURALES ET BIOGÉNÉTIQUES DES ACIDES MYCOLIQUES EN RAPPORT AVEC LA PHYLOGENÈSE DE QUELQUES GENRES D'ACTINOMYCÉTALES

PRÉSIDENT : Monsieur Jacques POLONOVSKI, Professeur

MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS-VIe
1967

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.). Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (Mlle J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

Doyen : Georges Brouet.

1er *Assesseur :* Daniel Bargeton. 2e *Assesseur :* Jean Gosset.

I. — PROFESSEURS

1° Chaires de sciences fondamentales.

a) *Professeurs titulaires :*	MM.
Anatomie	Delmas (A.)
Anatomie	Huard (P.)
Anatomie et cytologie pathologiques	Delarue (J.)
Anesthésiologie	Vourc'h (G.)
Bactériologie et virologie	Tournier (P.)
Biochimie médicale	Jayle (M.-F.)
Biochimie médicale	Polonovski (J.)
Biochimie médicale	Desgrez (P.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	Malmejac (J.)
Biologie médicale	Fauvert (R.)
Biophysique médicale	Bugnard (L.)
Biophysique médicale	Dognon (A.)
Biophysique médicale	Djourno (A.)
Cancérologie expérimentale	Mathé (G.)
Chimie pathologique	Schapira (G.)
Génétique fondamentale	Lejeune (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	Coury (Ch.)
Histologie et embryologie	Tuchmann-Duplessis (H.)
Histologie et embryologie	Coujard (R.)
Hygiène et médecine préventive	Boyer (J.)
Médecine du travail	Desoille (H.)
Médecine légle, Droit médical et déontologie	Derobert (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	Fasquelle (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	Laurence (G.)
Pathologie chirurgicale	Kuss (R.)
Pathologie chirurgicale	Verne (J.-M.)
Pathologie exotique	Brumpt (L.-C.)
Pathologie expérimentale et comparée	Merklen (F.-P.)
Pathologie médicale	Laroche (Cl.)
Pathologie médicale	Bricaire (H.)
Pathologie médicale	Péquignot (H.)
Pathologie respiratoire	Turiaf (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	Maurice (P.)
Pharmacologie	Boissier (J.-R.)
Pharmacologie	Lechat (P.)
Physiologie	Bargeton (D.)
Physiologie	Parrot (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	Lepage (F.)
Radiologie médicale	Desgrez (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	Lamotte (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

UNIV. LEIDEN BIBL.

b) *Professeur à titre personnel :*

MM.

Anatomie	Cabrol (Ch.)
Anatomie anthropologique	Olivier (G.)
Anatomie pathologique	Nezelof (Ch.)
Bactériologie	Barbier (P.)
Biochimie médicale	Dreyfus (J.-Cl.)
Biologie médicale	Bourlière (F.)
Parasitologie	Larivière (M.)
Pathologie expérimentale	Loeper (J.)
Physiologie	Dejours (P.)
	Scherrer (J.)
Physique médicale	Kellershohn (L.)
	Gougerot (L.)
	Roucayrol (J.-Cl.)
	Tubiana (M.)
Radiologie médicale	Fischgold (H.)

2° Chaires de sciences cliniques.

a) *Professeurs titulaires :*

Clinique carcinologique	Denoix (P.)
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	Redon (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	Soulié (P.)
Clinique cardiologique (Boucicaut)	Lenègre (J.)
Cliniques chirurgicales :	
Beaujon	Lortat-Jacob (J.L.)
Beaujon	Baumann (J.)
Cochin	Léger (L.)
Hôtel-Dieu	Patel (J.)
Saint-Antoine	Gosset (J.)
Salpêtrière	Sicard (A.)
Tenon	Olivier (Cl.)
Cliniques chirurgicales orthopédiques et traumatologiques :	
Cochin	Merle d'Aubigné (R.)
Foch	Padovani (P.)
Beaujon	Cauchoix (J.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	Fèvre (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	Dubost (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec)	Mathey (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	Duperrat (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	Decourt (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	Lamy (M.)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)	Huguier (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	Degos (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	Turpin (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	Mollaret (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	Delay (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	Bernard (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	Castaigne (P.)
Cliniques médicales :	
Bicêtre	Deparis (M.)
Broussais	Milliez (P.)
Cochin	N...
Hôtel-Dieu	Bariéty (M.)
Pitié	Dreyfus (G.)
Saint-Antoine	Conte (M.)
Saint-Antoine	Kourilsky (R.)
Saint-Antoine	Boudin (G.)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	Debray (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	Marie (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	Justin-Besançon (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)	Derot (M.)
Clinique néphrologique (Necker)	Hamburger (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	David (M.)

	MM.
Clinique neurologique (Salpêtrière)	Garcin (R.)
Cliniques obstétricales :	
Baudelocque	Lacomme (M.)
Saint-Antoine	Merger (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	Varangot (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	Offret (G.)
Clinique ophtalmologique (Cochin)	Bregeat (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	Aubry (M.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	Mozziconacci (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	Thieffry (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	Brouet (G.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	Michaux (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	Coste (F.)
Clinique de rhumatologie (Lariboisière)	Sèze (S. de)
Clinique de stomatologie (Salpêtrière)	Dechaume (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	Roux (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	Lemaire (A.)
Clinique toxicologique (F. Widal)	Gaultier (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	Judet (R.)
Clinique urologique (Cochin)	Aboulker (P.)
Clinique urologique (Necker)	Couvelaire (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	Laplane (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	Domart (A.)
Séméiologie médicale (Lariboisière)	Bouvrain (Y.)
Séméiologie médicale (Pitié)	Rambert (P.)
Séméiologie médicale (Rothschild)	Wolfromm (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	Poilleux (F.)

b) *Professeurs à titre personnel :*

Hématologie	André (R.)
	Bousser (J.)
Hydrologie et climatologie	Giberton (A.)
Maladies infectieuses	Bastin (R.)
Médecine	Azerad (E.)
	Bour (H.)
	Caroli (J.)
	Dreyfus (B.)
	Grossiord (A.)
	Lambling (A.)
	Launay (Cl.)
	Payet (M.)
	Perrault (M.)
	Siguier (F.)
	Worms (R.)
Néphrologie	Richet (G.)
Neuro-chirurgie	Le Beau (J.)
Neurologie	Lhermitte (F.)
Neuro-psychiatrie	Pichot (P.)
Oto-rhino-laryngologie	Maduro (R.)
Pédiatrie	Polonovski (Cl.)
	Royer (P.)
Pneumo-Phtisiologie	Kreis (B.)
	Meyer (A.)
Rhumatologie	Delbarre (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.		MM.
Anatomie pathologique	Gouygou (Ch.)	Maladies infectieuses	Dupont (V.)
Bactériologie	Christol (D.)	Neuro-psychiatrie	Tardieu (G.)
Biochimie médicale.	Cartier (P.)	Pédiatrie	Rossier (A.)
	Gonnard (P.)	Physique médicale.	Coursaget (J.)
	Nordmann (J.)		Grémy (F.)
Biologie médicale.	Hartmann (L.)	Physiologie	Girard (Fr.)
Chirurgie	Cerbonnet (G.)	Stomatologie	Chaput (Mme A.)
Hématologie	Bilski-Pasquier (G.)		

III. — PROFESSEURS DETACHES
DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	Hauduroy (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	Rudler (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEURS ASSOCIES

Hormonologie	Moricard (R.)
Statistique médicale et épidémiologique	Schwartz (D.)

Secrétaire général de la Faculté.	M. Lena (J.)
Conseiller administratif	Mlle Chaintreuil (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque. Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur Hahn (A.)
Conservateurs	Mlles Dumaitre (P.), Laurent (H.), Le Noir (G.)
Bibliothécaires	Mmes Contet (J.), Forget (F.), Mlles Durozoy (M.-F.), Roberge (D.), Dr Schiller (J.)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546008_0135

Cette thèse est dédiée à la mémoire
de R. J. Anderson

LES ACIDES MYCOLIQUES STRUCTURE, BIOGENÈSE ET INTÉRÊT PHYLOGÉNÉTIQUE

PAR

A. H. Etémadi (*)

Institut de Chimie des Substances Naturelles, 91-Gif-sur-Yvette.

I. — INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Depuis les premiers travaux d'Anderson [*1*] et d'Anderson et collaborateurs (par exemple [*2-8*]) nos connaissances sur la nature des acides mycoliques ont beaucoup évolué. En parlant de ces acides il faut d'abord souligner d'emblée l'extraordinaire complexité du mélange appelé au début « acide mycolique »; cette constatation explique le fait que ce qui a été qualifié de « pur » à un moment donné ne l'était plus à un autre de sorte qu'aujourd'hui nous arrivons à la conclusion que rarement un acide mycolique pur, au sens chimique du terme, a pu être isolé et que de toute façon, dans la nature, il s'agit toujours d'un mélange.

En 1929 Anderson [*1*], par saponification des « cires purifiées » isolées de la souche H_{37} de *Mycobacterium tuberculosis,* obtient une fraction qu'il appelle « cire insaponifiable » à laquelle il attribue la formule brute $C_{94}H_{188}O_4$ et dont il détermine la nature acide et hydroxylée [*1*]; il montre que la pyrolyse de cette « cire insaponifiable » donne de l'acide hexacosanoïque.

En 1938, Stodola, Lesuk et Anderson [*2*], par saponification prolongée de la « cire insaponifiable », obtiennent un hydroxy-acide qu'ils appellent acide mycolique et auquel ils attribuent les formules brutes $C_{88}H_{172}O_4$ ou $C_{88}H_{176}O_4$; ils confirment que la pyrolyse de cet acide donne de l'acide hexacosanoïque et établissent, en outre, l'existence d'un

---

(*) *Adresse actuelle :* Milstead Laboratory of Chemical Enzymology, Sittingbourne, Kent, England.

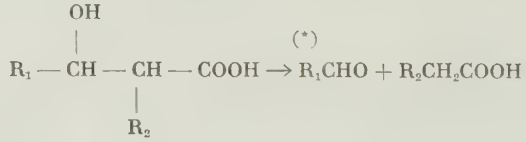
méthoxyle dans la molécule; ensuite, Lesuk et Anderson [3], soumettent l'acide mycolique à l'oxydation chromique et, comme résultat de laborieux fractionnements des produits d'oxydation, décrivent l'isolement de l'acide stéarique, de l'acide octadécane-1,18-dioïque et de l'acide hexacosanoïque.

Anderson et collaborateurs ont montré, par ailleurs, l'existence d'autres types d'acides mycoliques chez différentes espèces de Mycobactéries [5-7] et décrit, notamment, des acides mycoliques dicarboxyliques [7, 8].

L'étude de structure des acides mycoliques a pris un regain d'intérêt à la suite, d'une part, de la mise en évidence par Choucroun de la propriété antigénique [9, 10] d'une fraction « lipopolysaccharidique » isolée de *Mycobacterium tuberculosis* souche PB 15 [11, 12], que l'auteur appelle « pmko », et d'autre part des expériences de Raffel montrant que les « cires purifiées » d'Anderson jouaient un rôle dans l'établissement de l'hypersensibilité tuberculinique retardée (voir par exemple [13] et [14]). Choucroun montrait, de son côté, que sa fraction « pmko » jouait également un rôle semblable [15] tandis qu'Asselineau et collaborateurs identifiaient le « pmko » à une fraction des « cires purifiées » d'Anderson [16, 17]. Or, la fraction « pmko » de Choucroun [16] aussi bien que les « cires purifiées d'Anderson » contiennent, comme constituants lipidiques principaux, les acides mycoliques.

Une longue série de travaux a alors été entreprise par J. Asselineau, depuis 1949, sur les lipides de Mycobactéries, et dans le laboratoire d'E. Lederer d'autres chercheurs, s'inspirant de ses travaux, ont abordé l'étude des constituants lipidiques des Corynébactéries et des Nocardia.

En ce qui concerne les acides mycoliques de Mycobactéries, par chromatographie sur une colonne d'alumine des représentants de ces acides isolés des souches Test et Aeschbacher de *M. tuberculosis*, Asselineau et Lederer ont obtenu deux fractions appelées acides α et β-mycolique [18] et ont montré qu'il s'agissait, dans les deux cas, d'acides α-ramifiés, β-hydroxylés de structure générale I [19, 20] et ont attribué à cette particularité de structure la réaction de pyrolyse découverte par Anderson et collaborateurs [1, 2]. Cette structure générale s'est révélée ensuite être valable pour les acides corynomycoliques des Corynébactéries et les acides nocardiques de Nocardia :

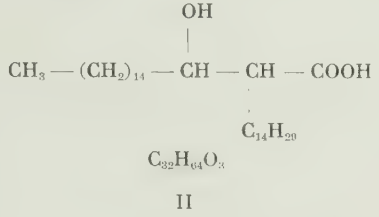


I

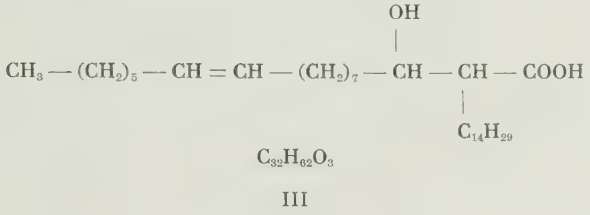
En 1952, à partir de *Corynebacterium diphtheriae*, Lereder et Pudles

(*) L'aldéhyde obtenu dans cette réaction s'appelle aldéhyde méromycolique, l'acide obtenu par son oxydation est l'acide méromycolique.

ont isolé deux acides mycoliques : les acides corynomycolique (II) et corynomycolénique (III) [*21, 22*] :



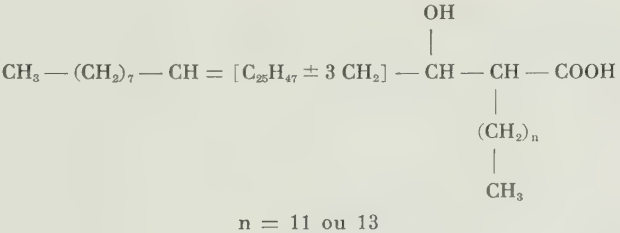
II



III

Les mêmes acides ont été trouvés ensuite par Diara et Pudles dans les lipides de *C. ovis* [*23*].

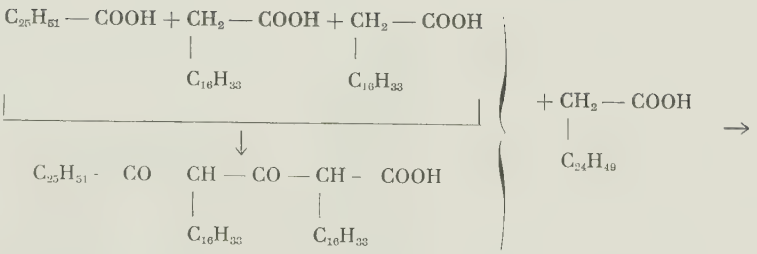
Plus récemment, en 1960, Michel, Bordet et Lederer [*24*] ont mis en évidence l'existence d'acides α-ramifiés, β-hydroxylés, dans un autre genre bactérien, les Nocardia, et leur ont attribué la formule brute : $C_{50}H_{96}O_3 \pm 3CH_2$ et la structure partielle IV :

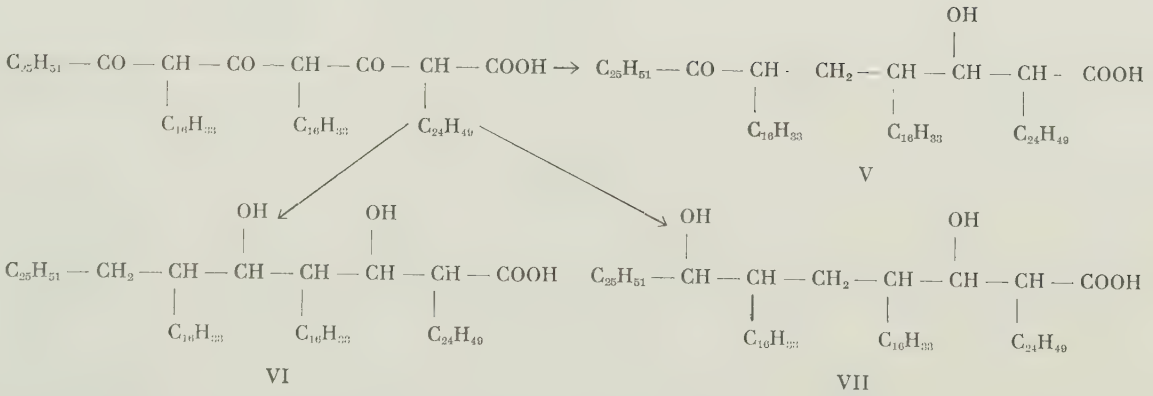


IV

La partie entre crochets était censée contenir une deuxième double liaison et une ramification.

La nature des fragments R_1 des acides mycoliques de Mycobactéries, malgré de nombreux travaux de dégradation (voir par exemple [*20, 25, 26*] et les références qui y sont incluses, [*27, 28*]) et de synthèse (voir par exemple [*26, 29, 30*]) est restée également mystérieuse; néanmoins différentes considérations ont amené Asselineau et Lederer à proposer une voie de biogenèse pour les acides α-ramifiés, β-hydroxylés en général, selon laquelle les acides corynomycoliques, les acides nocardiques et les acides mycoliques sont synthétisés respectivement par la condensation


C25H51 — COOH + CH2 — COOH + CH2 — COOH
C16H33 C16H33
+ CH2 — COOH
C24H49
C25H51 - CO CH — CO — CH - COOH
C16H33 C16H33


C25H51 — CO — CH — CO — CH — CO — CH — COOH
C16H33 C16H33 C24H49
C25H51 — CO — CH - CH2 — CH — CH — CH - COOH
C16H33 C16H33 C24H49
OH
V
OH OH
C25H51 — CH2 — CH — CH — CH — CH — CH — COOH
C16H33 C16H33 C24H49
VI
OH OH
C25H51 — CH — CH — CH2 — CH — CH — CH — COOH
C16H33 C16H33 C24H49
VII

de deux, trois et quatre unités d'acides gras (voir par exemple [*26, 31, 32*]); dans ce dernier cas la biogenèse était schématisée de la manière suivante (voir page 80); les acides mycoliques devaient avoir les structures V, VI et VII :

Rappelons que la possibilité même de la condensation de deux unités d'acides gras a été prévue d'abord par Channon et Chibnall [*33*] (voir aussi [*34*]) pour expliquer la genèse de quelques cétones et alcanes naturels et que, dans le cas de l'acide corynomycolique de *C. diphtheriae*, une telle condensation a été démontrée [*35*].

Pourtant, tous les faits, et notamment la mise en évidence de l'acide octadécane-1,18-dioïque dans les produits de dégradation des acides mycoliques et l'étude de couches monomoléculaires [*36*], n'étaient pas en accord avec les structures proposées; néanmoins, des dégradations effectuées, certains auteurs [*28*] ont cru pouvoir conclure la structure VIII qui, à des détails près, est en accord avec l'hypothèse de biogenèse mentionnée :

$n_1 = 21$ et 23 $n_2 = 21$ et 23 R = un radical alcoyle m = environ 17.

VIII

II. — BREF APERÇU DES TECHNIQUES D'ISOLEMENT ET DE DÉTERMINATION DE STRUCTURE DES ACIDES MYCOLIQUES

Obtention et essai d'homogénéité

La description détaillée des techniques qui nous ont permis d'obtenir, d'analyser et de déterminer la structure des acides mycoliques serait trop longue; nous relèverons seulement les quelques points suivants (*) :

Ayant pour but l'étude de structure des acides mycoliques nous avons évité le long fractionnement des lipides décrit par Anderson [*38*] en soumettant directement les bactéries humides au traitement par KOH méthanolique; quelquefois même, les résidus bactériens, après épuisement des micro-organismes selon Anderson, ont été soumis à ce traitement en vue de récupérer des acides mycoliques; mentionnons par exemple qu'un essai de ce genre a montré que 5 % du résidu de *M. smegmatis* étaient formés d'acides mycoliques.

Les esters méthyliques des acides mycoliques sont chromatographiés

(*) Le lecteur intéressé pourra se reporter à la référence [*37*].

sur colonne de gel de silice et la pureté des différentes fractions est examinée sur plaques de gel de silice ou plaques de cet adsorbant imprégnées de NO_3Ag. Cette dernière technique nous a permis, par exemple, de séparer trois catégories d'acides α-smegma-mycolique : α_1, α_2 et α_3; ou d'analyser les nocardates de méthyle en trois catégories de substances : saturées et mono- et di-insaturées.

Étude spectrale

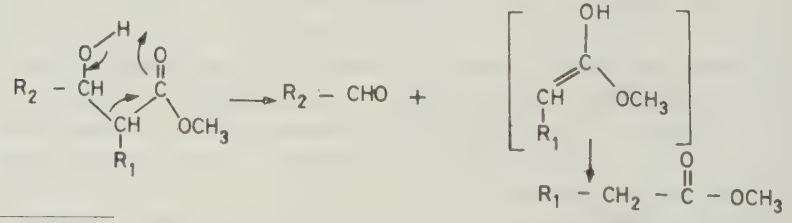
L'homogénéité de chaque fraction ainsi garantie (*) nous examinons chaque catégorie de mycolates de méthyle par les techniques physiques : spectrométrie IR, spectrographie de R.M.N., spectrométrie de masse, etc. Relevons dans ce domaine les quelques points suivants :

La spectrométrie IR nous a permis de montrer l'existence d'une double liaison trans (bande à 975 cm^{-1}) dans certains acides mycoliques ou celle de cycles propaniques (bandes à 1.030 cm^{-1} et 3.060 cm^{-1}) dans certains autres. L'étude comparée de la région d'absorption de OH et de C = O effectuée sur les α- et les pré-α-mycolates de méthyle a permis de montrer que les premiers ont la configuration *thréo* et les seconds la configuration *érythro* pour les centres asymétriques en positions 2 et 3 [*39*]. L'étude des spectres IR conduit également à envisager la configuration *thréo* pour les carbones en positions 2 et 3 des acides nocardiques et des acides corynomycoliques (**).

La spectrométrie de R.M.N. a confirmé l'existence de doubles liaisons (signaux de résonance centrés à 215 c.p.s. : protons oléfiniques) ou de cycles propaniques (signaux à 35 c.p.s. et 18 c.p.s. : cycle cis et vers 25 c.p.s. : cycle trans). D'autres particularités de structure des acides mycoliques sont révélées ou confirmées par cette technique : l'existence d'un méthoxyle (résonance des protons vers 200 c.p.s.) dans certains acides et l'existence possible d'un groupement cétonique (résonance de protons sur le carbone en α : vers 130 c.p.s.).

La spectrométrie de masse a été d'un grand secours : la réaction de pyrolyse des mycolates de méthyle qui se fait par un « déplacement électronique circulaire et concerté » aboutit à un aldéhyde et un ester :

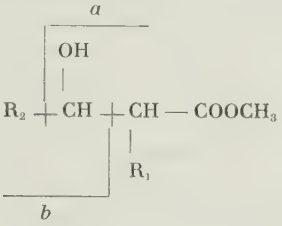
Schéma 1.



(*) Répétons que cette homogénéité ne veut pas dire pureté chimique; il s'agit toujours d'un mélange d'homologues.

(**) Voir également [*40 a* et *b*].

On pourrait donc s'attendre à ce que le spectre de masse des mycolates de méthyle présente la superposition des spectres de l'aldéhyde (*) et de l'ester formés par la pyrolyse, et en fait c'est ce qu'on a observé chaque fois que la pyrolyse a eu lieu dans l'introduction [37, 41 *a* et *b*]. Quand on soumet les mycolates de méthyle à la spectrométrie de masse en utilisant un système d'introduction directe, alors d'autres pics apparaissent, parmi ceux-ci les pics à M-18 (H_2O) et M-50 ($H_2O + CH_3OH$) doivent être cités; des coupures selon *a* et *b* sur l'ion moléculaire ont aussi un grand intérêt analytique :



Préparation des dérivés et dégradation des acides mycoliques

La préparation de quelques dérivés a été fort utile pour la détermination de structure des acides mycoliques.

L'aldéhyde méromycolique ou méromycolal, c'est-à-dire l'aldéhyde provenant de la pyrolyse des acides mycoliques, a été considéré comme étant inaccessible; or, nous l'avons obtenu dans tous les cas où nous l'avons cherché, aussi bien par pyrolyse dans un tube à boules que par chromatographie pyrolytique. Au cours de cette chromatographie le produit est chauffé à l'introduction; on obtient le chromatogramme des produits de la pyrolyse comportant donc notamment le pic de l'aldéhyde [37, 41 *a* et *b*, 42].

Méromycolates de méthyle. — Par oxydation des méromycolals par Ag_2O alcalin [37, 43, 44] et par traitement des acides obtenus par le diazométhane on obtient les méromycolates dont l'étude complète celle des acides mycoliques de départ. Rappelons, par exemple, que par la simple comparaison des spectres IR des α-méromycolates de méthyle et des β-méromycolates de méthyle, nous avons montré que ces derniers étaient cétoniques [37].

Acétyl-mycolates de méthyle. — Leur étude a été également d'un grand intérêt : par leur analyse et l'examen de leur spectre de R.M.N. nous avons

(*) On voit alors qu'étant donné la diversité des acides mycoliques on a une gamme étendue d'aldéhydes de structure variée dont l'étude spectrométrique a pu être ainsi faite; ceci a donné lieu à d'intéressantes constatations sur le comportement de ces composés et facilité en retour, l'étude de structure des acides mycoliques [37, 41 *a* et *b*].

pu montrer qu'il n'y a qu'un seul hydroxyle dans les acides mycoliques étudiés jusqu'à présent.

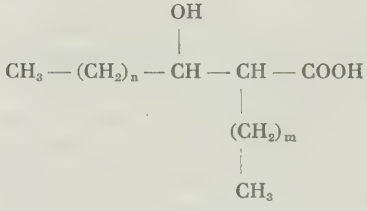
Dégradation. — Nous avons déjà mentionné la pyrolyse; un autre procédé de dégradation qui nous a beaucoup servi est l'ozonolyse oxydative que nous avons utilisée sur les mycolates de méthyle ou différents dérivés de ces composés (acétates, méromycolates, anhydromycolates, etc.); les ozonides sont détruits soit par H_2O_2 soit par Ag_2O alcalin [*43*]; les produits d'oxydation sont étudiés, après fractionnement en différents types de composés, par chromatographie en phase vapeur, spectrométrie de masse ou au besoin par d'autres méthodes spectrométriques.

III. — STRUCTURE DES ACIDES MYCOLIQUES

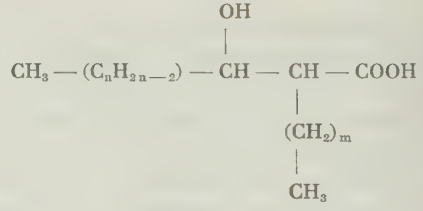
Différentes espèces de trois genres bactériens, les Corynébactéries, les Nocardia et les Mycobactéries, ont été étudiées en vue d'élucider la structure des acides mycoliques qu'ils renferment.

Structure des acides corynomycoliques des Corynébactéries

Les structures IX et X représentent les acides corynomycoliques et corynomycoléniques mis en évidence dans quelques espèces de Corynébactéries :



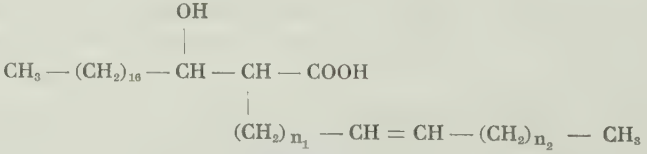
IX



X

n = 14	m = 13	*Corynebacterium diphtheriae* [*21*]
n = 14, *16*	m = *13*, 15	*Corynebacterium 506* [*45*]
n = 13, 14, 15, *16*, 17	m = 11, 13, *15*	*Corynebacterium 6.083-9* [*37*]

Par ailleurs un nouveau type d'acide mycolique XI a été trouvé chez *Corynebacterium 6.083-9* qui comporte une insaturation dans la ramification en α [*37*], fait nouveau qui n'a encore jamais été observé avec les acides mycoliques d'autres origines :

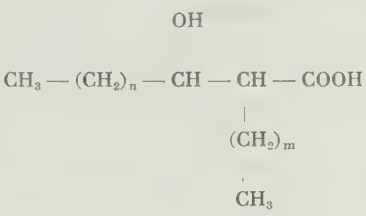


XI

Chez *C. rubrum*, un mélange complexe d'acides α-ramifiés, β-hydroxylés a été mis en évidence dont les acides de pyrolyse sont de C_{11} à C_{16} et les aldéhydes de C_{17} à C_{30} [*37*].

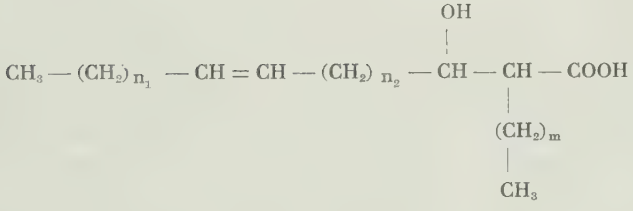
Structure des acides nocardiques des Nocardia

Dans des études préliminaires nous avons montré qu'il existe chez *N. astéroïdes* des acides nocardiques de différentes catégories variant notamment par le nombre d'insaturations de leurs fragments mérononocardiques et que ces fragments sont linéaires [*46*, *47*]. Nous avons poussé dans le cas d'une autre espèce de Nocardia, *Nocardia opaca*, l'étude de structure de ces acides et mis en évidence [*48*, *49*] trois catégories de substances : saturées (XII) et mono- et di-insaturées (XIII et XIV) :



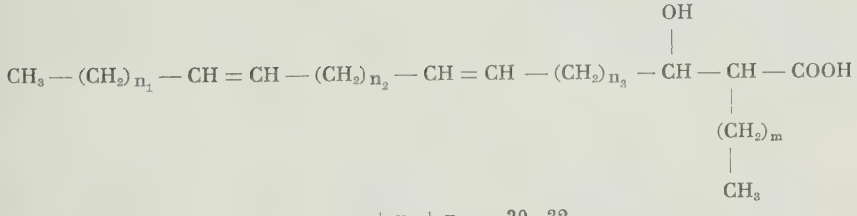
$n = 30, \mathit{32}$ et 34
$m = 7, \mathit{9}$ et 11

XII



$n_1 = \mathit{11}, 13, 15$
$n_2 = 19, \mathit{21}, 23$
$m = 7, \mathit{9}$ et 11

XIII



$n_1 + n_2 + n_3 = 30, \mathit{32}$
$m = 7, \mathit{9}$ et 11

XIV

Ces fractions représentent respectivement 5 %, 15 % et 80 % du mélange.

Des études récentes ont montré que les fragments méronocardiques des acides nocardiques de *N. astéroïdes* sont identiques à ceux de *N. opaca,* du moins en ce qui concerne leur nombre d'atomes de carbone et le nombre de leur insaturation [*41 b*]; les acides de ces deux espèces bactériennes diffèrent pourtant par la nature de la ramification en α : les structures générales XII, XIII et XIV sont valables pour les acides de *N. astéroïdes* avec m = 9, 11 et *13*.

Structure des acides mycoliques de Mycobactéries

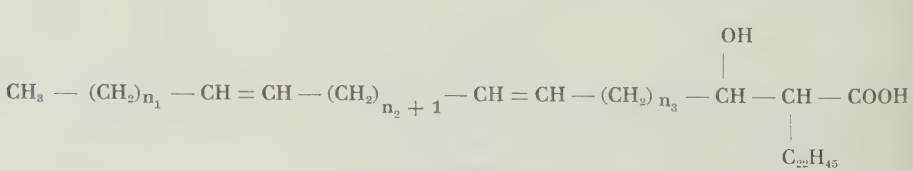
C'est dans le domaine des acides mycoliques des Mycobactéries que les études ont été les plus poussées; jusqu'à six types de ces acides ont été isolés; le tableau suivant [*37*] (voir page 87) donne le nombre approximatif d'atomes de carbone et la nature des fonctions oxygénées qu'ils comportent. Chaque type d'acide comprend différentes catégories de substances variant par le nombre de doubles liaisons, l'absence ou la présence de groupements méthyles et leur nombre; l'absence ou la présence de cycles propaniques et leur nombre.

1° **Structure de différents types d'acides mycoliques de** Mycobacterium smegmatis. — Quatre types d'acides mycoliques ont été mis en évidence chez cette espèce de Mycobactérie. Ce sont les acides pré-α-, α-, α'- et β-mycoliques.

Les acides α- constituent 60 %, les α'- 25 % et les β- 15 % du mélange de départ. Les acides pré-α- existent en faible pourcentage.

a) Acides pré-α-smegmamycoliques. — Nous avons montré que ces acides sont les diastéréo-isomères des acides α; la configuration relative des centres asymétriques en positions 2 et 3 est *érythro* pour ces acides et *thréo* pour les acides α-mycoliques.

b) Acides α-smegmamycoliques. — Trois catégories de ces acides ont été obtenues et leurs structures déterminées. Leurs esters méthyliques ont été isolés par chromatographie sur plaques de gel de silice imprégnées de NO_3Ag et présentent par ordre de Rf croissant α_1 37 %, α_2 50 % et α_3 17 % du mélange de départ. Les structures suivantes XV [*50*], XVI [*44*] et XVI [*51*] ont été élucidées, respectivement, pour ces acides :

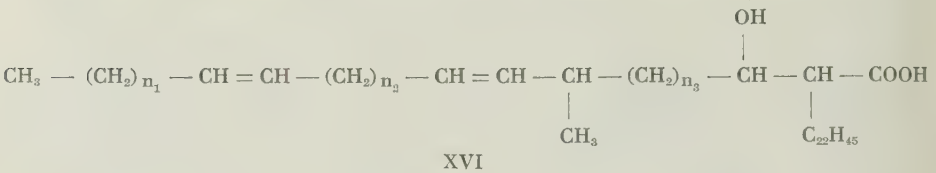


XV

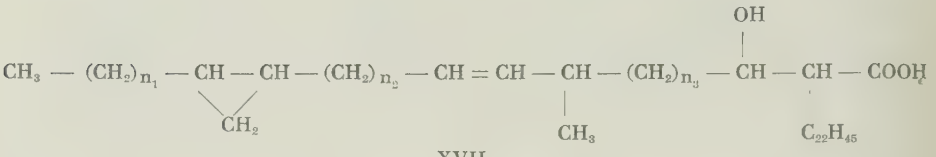
TABLEAU DE DIFFÉRENTS TYPES D'ACIDES MYCOLIQUES MIS EN ÉVIDENCE CHEZ LES MYCOBACTÉRIES; LA DERNIÈRE COLONNE INDIQUE UNE DÉSIGNATION ÉVENTUELLE POUR CES ACIDES [37].

NOM UTILISÉ DANS LE TRAVAIL	NATURE DES FONCTIONS OUTRE LE CARBOXYLE	NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE	ISOLÉ DE				DÉSIGNATION ÉVENTUELLE
			M. smegmatis	*M. kansasii*	*M. tuberculosis*	*M. avium*	
Acides pré-α-mycoliques ..	1 -OH	? (*)	+	+	+	+	A
α-mycoliques	1 -OH	80	+	+	+	+	B
α′-mycoliques	1 -OH	60	+	—	—	—	C
α′-mycoliques	1 -OH, 1 $-OCH_3$	80	—	+	+	—	D
β-mycoliques	1 -OH, 1 $C=O$	80	+	+	+	+	E
Acides mycoliques dicarboxyliques	1 -OH, 1 $-C(=O)-OH$	60 ? (*)	—	—	—	+	F

(*) C'est pour respecter la forme originale du tableau que nous conservons ces points d'interrogation qui n'ont plus lieu de figurer (voir le texte et les références qui y sont incluses.



XVI

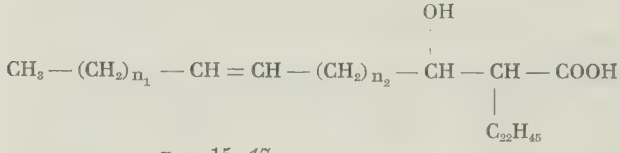


XVII

$n_1 = 15, \mathit{17}, 19$ $n_2 = \mathit{13}, 15$ $n_3 = 15, \mathit{17}$

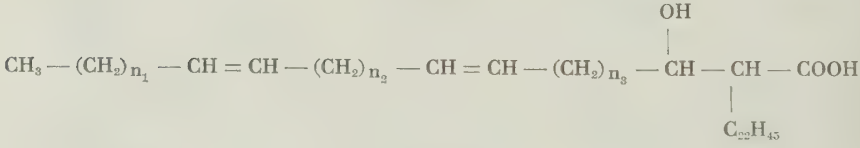
La structure entière des acides de type XV a été prévue par une hypothèse de biogenèse (voir plus loin).

c) Acide α′-smegmamycolique. — De même ces acides ont été analysés sur plaques de gel de silice; deux catégories de substances ont été isolées α'_1 et α'_2 pour lesquelles les structures XVIII [*52*] et XIX [*42*] ont été, respectivement, élucidées :



$n_1 = 15, \mathit{17}$ $n_2 = \mathit{17}, 19$

XVIII

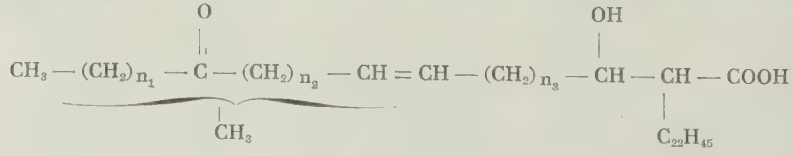


$n_1 = 15, \mathit{17}$ $n_2 = 14, 16$ $n_3 = 7$

XIX

Ici également l'essentiel de la structure XVIII a été prévu par notre hypothèse de biogenèse (voir plus loin).

d) Structure des acides β-smegmamycoliques. — Il s'agit d'un mélange complexe de composés qui a été analysé; la structure partielle suivante XX est proposée pour les représentants insaturés de ces acides [*53*] :



$n_1 + n_2 = 30, \mathit{32}, 34$ $n_3 = 15, \mathit{17}, 19$

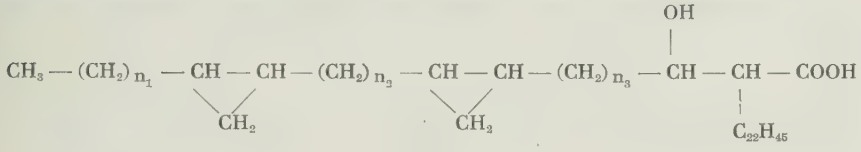
XX

Remarquons qu'il s'agit d'acides cétoniques. La nature cétonique des acides β-mycoliques est un phénomène général que nous avons mis en évidence.

2° **Structure de différents types d'acides mycoliques isolés de** Mycobacterium tuberculosis, **var hominis souche Test.** — Ici également quatre types d'acides mycoliques, les acides pré-α, les α, les α' et les β ont été isolés.

a) Structure des acides pré-α-mycoliques. — Ces acides comme les acides pré-α-smegmamycoliques sont diastéréo-isomères des acides α correspondants [*39*].

b) Structure des acides α-mycoliques. — Les acides α-mycoliques ont, dans ce cas, la structure suivante XXI [*37, 41 b, 54*] :



$n_1 = 15, \mathit{17}, \mathit{19}$ $n_2 = 12, \mathit{14}$ $n_3 = \mathit{13}, 15, 17$

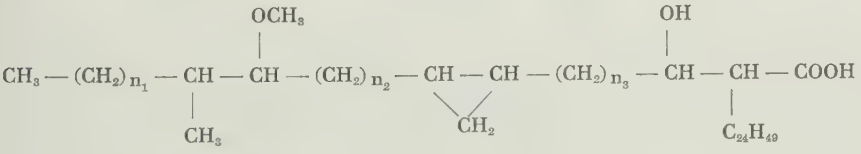
XXI

Pour le représentant le plus abondant dans le mélange $n_1 = 17$, $n_2 = 14$, $n_3 = 13$.

Les acides α-mycoliques d'autres espèces de Mycobactéries ont également la structure générale XXI, c'est le cas de *M. kansasii* [*55*], de *M. avium* [*56*], du *B.C.G.* [*57*] et d'une catégorie d'acides α-mycoliques de *M. phlei* [*58*] et de *M. leprae* [*59*].

Un fait à mentionner est que, ici encore, notre hypothèse de biogenèse a été d'un grand secours pour prévoir la place des cycles dans la chaîne.

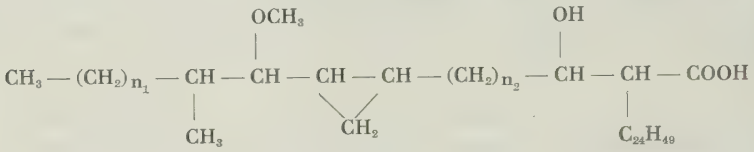
c) Structure des acides α'-mycoliques. — Ces acides sont méthoxylés; la structure générale XXII est proposée pour ces composés [*60*] :



$n_1 = 15, \mathit{17}, 19$ $n_2 = 14, 15, \mathit{16}, 17$ $n_3 = \mathit{17}, 18, 19$

XXII

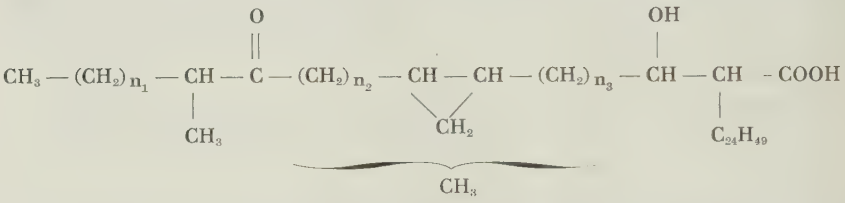
Rappelons que c'est à ces acides que la structure VIII a été attribuée, précédemment, par Polgar et collaborateurs [28]. Minnikin et Polgar, à la suite des données que nous avons rapportées [37], ont proposé la structure XXIII pour ces composés [61]; cette structure, basée sur une interprétation discutable du spectre de R.M.N., n'est pas acceptable.



$n_1 = 17$ $n_2 = 33$

XXIII

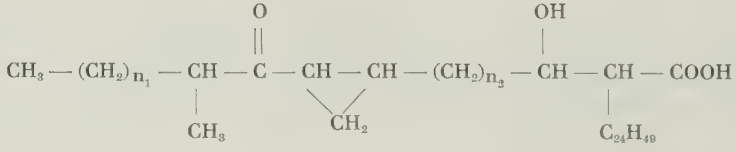
d) Structure des acides β-mycoliques. — Il s'agit d'un mélange de composés; la structure partielle XXIV est probable pour un de ces acides [53] :



$n_1 = 17$ $n_2 + n_3 = 35$

XXIV

Ici encore Minnikin et Polgar [61], à la suite de la publication d'une structure partielle des acides β-mycoliques par notre laboratoire [62, 63, 64] ont proposé la structure XXV qui, sauf pour la partie commune avec notre structure, est en contradiction avec les données expérimentales :



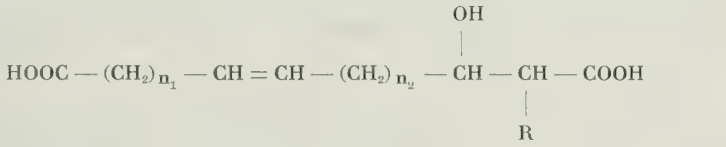
$n_1 = 17$ $n_2 = 36$

XXV

3° **Structure des acides mycoliques dicarboxyliques isolés de** M. phlei. — Des acides mycoliques dicarboxyliques ont été mis en évidence, pour la première fois, par Anderson et collaborateurs [7, 8]. Depuis, différents

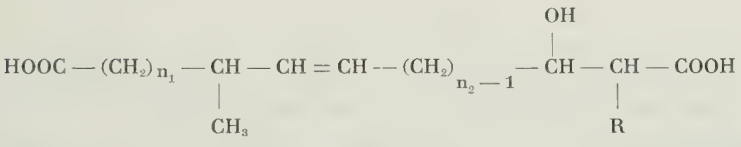
auteurs les ont isolés [*65, 66, 67*]; les formules brutes suivantes leur ont été attribuées : $C_{88}H_{176}O_6$, $C_{76}H_{148}O_6$, $C_{68}H_{132}O_6$, $C_{84}H_{164}O_6$ et $C_{84}H_{166}O_6$.

Nous avons proposé une voie de biogenèse pour ces composés qui les relie aux deux autres types de métabolites rencontrés dans les lipides de Mycobactéries, à savoir les acides β-mycoliques et les méthylcarbinols comme le 2-eicosanol et le 2-octadécanol; selon cette hypothèse [*62, 63, 64*] les acides mycoliques dicarboxyliques doivent avoir autant d'atomes de carbone en moins, par rapport aux acides β-mycoliques, que les méthylcarbinols en contiennent ce qui fixe le nombre d'atomes de carbone de ces composés à 60 environ et exige que ces acides soient en O_5 et non en O_6 voir plus loin); or voici les structures, XXVI et XXVII, qui ont été élucidées pour les représentants insaturés de ces acides [*68*] : ces acides présentent les formules brutes $C_{67}H_{110}O_5$, $C_{58}H_{112}O_5$ et $C_{59}H_{114}O_5$:



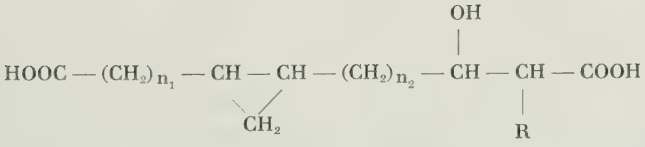
$n_1 = 14, 16$ $n_2 = 17, 19$ $R = C_{20}H_{41}$ et $C_{22}H_{45}$

XXVI



$n_1 = 14$ $n_2 = 17$ $R = C_{20}H_{41}$ et $C_{22}H_{45}$

XXVII



$n_1 = 14, 16$ $n_2 = 17, 19$ $R = C_{20}H_{41}$ et $C_{22}H_{45}$

XXVIII

De même la structure XXVIII semble valable pour les représentants de ces acides qui comportent un cycle propanique [*69*] : ces acides présentent les formules brutes $C_{58}H_{112}O_5$ et $C_{60}H_{116}O_5$.

IV. — BIOGENÈSE DES ACIDES MYCOLIQUES

On voit que, les structures que nous venons de rapporter, en ce qui concerne les acides nocardiques des Nocardia et les acides mycoliques des Mycobactéries sont, par leur nature même, en désaccord avec les hypothèses de biogenèse qui ont été proposées pour eux et selon lesquelles les premiers devraient provenir de la condensation de trois unités et les seconds de la condensation de quatre unités d'acides gras.

Néanmoins, récemment encore, une réminiscence de telles idées s'est manifestée sous forme d'une proposition selon laquelle les acides mycoliques de Mycobactéries proviendraient de la condensation « tête à queue » de plusieurs unités d'acides gras [*70*]; or, une telle hypothèse est en contradiction avec nos résultats d'études biogénétiques (voir plus loin).

Quelques faits d'expériences et quelques faits d'observation nous ont amenés à proposer un schéma général englobant la biogenèse des acides mycoliques de trois genres bactériens étudiés; les Corynébactéries, les Nocardia et les Mycobactéries.

Schéma général de biogenèse des acides mycoliques

1° **Faits expérimentaux.** — *a*) Incorporation de l'acide tétracosanoïque dans les acides α-smegmamycoliques. — Après avoir effectué la synthèse de l'acide tétracosanoïque 1-^{14}C par les réactions suivantes [*71*] (*) un échantillon de cet acide est introduit dans le milieu de culture

$$2\ C_{23}H_{47}-COOH + 2\ Br_2 + HgO \longrightarrow 2\ C_{23}H_{47}Br + H_2O + Br_2Hg + 2\ CO_2$$

$$C_{23}H_{47}Br + \overset{*}{C}NK \longrightarrow C_{23}H_{47}-\overset{*}{C}N + KBr \xrightarrow[KOH]{\text{hydrolyse}} C_{23}H_{47}-\overset{*}{C}OOH$$

de *M. smegmatis;* après purification, les α-smegmamycolates de méthyle sont radioactifs Les dégradations effectuées (pyrolyse, Schmidt-Phares) ont montré qu'à part une certaine distribution au hasard, la radioactivité était surtout localisée sur le carbone 1 de l'acide tétracosanoïque provenant de la prolyse; de cette expérience il résulte que :

1° les carbones 1 et 2 et la ramification en α du carboxyle des acides mycoliques étudiés trouvent leur origine dans l'acide tétracosanoïque mais que,

(*) Le bromure de tricostyle a été préparé selon [72].

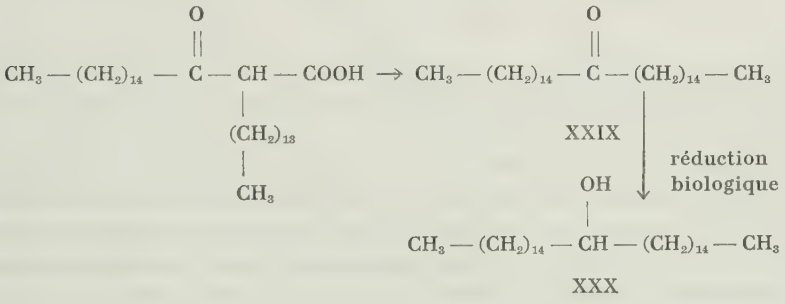
2° les fragments méromycoliques ne proviennent pas, essentiellement du moins, d'un allongement de chaînes à partir de cet acide.

b) Incorporation de l'acide palmitique dans les acides nocardiques de *Nocardia astéroïdes*. — Un échantillon d'acide palmitique 1-^{14}C a été introduit dans le milieu de culture de *N. astéroïdes* [*46*]. Les nocardates de méthyle purifiés sont radioactifs. Les dégradations effectuées montrent que :

1° les carbones 1 et 2 et la ramification en α du carboxyle des unités d'acides nocardiques, qui présentent l'acide palmitique comme acide de pyrolyse, trouvent leur origine biogénétique dans ce même acide et que,

2° les chaînes hydrocarbonées des fragments méromycoliques peuvent provenir de l'acide palmitique : des condensations d'unités acétiques sur l'acide palmitique donneraient naissance à certains fragments méronocardiques.

2° **Faits d'observation.** — *a*) Présence de la palmitone (XXIX) [*73*] et de l'hentriacontanol-16 (XXX) [*74, 75*] chez les Nocardia. — La biogenèse de ces composés nécessite la genèse préalable, chez ce genre bactérien, d'un intermédiaire biogénétique des acides corynomycoliques des Corynébactéries :



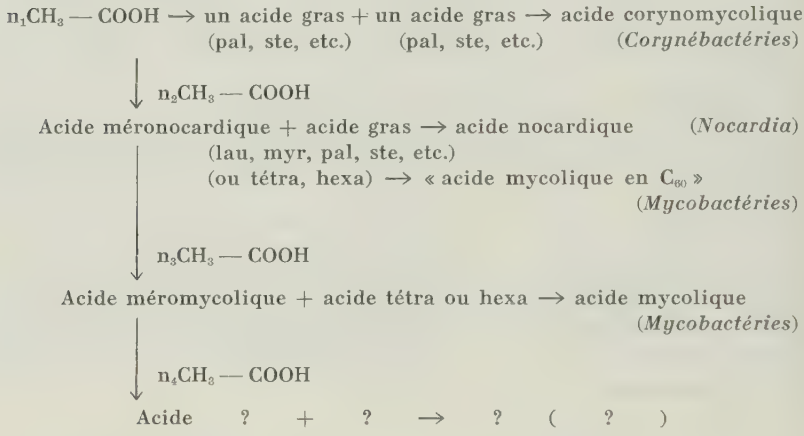
b) Existence, chez *M. smegmatis*, d'acides mycoliques en « C_{60} ». — Ces acides, par pyrolyse, donnent de l'acide tétracosanoïque; il devait donc s'agir d'acides dont les fragments méromycoliques auraient autant d'atomes de carbone environ que ceux des acides nocardiques; les acides en « C_{60} » pouvaient, par conséquent, être considérés comme des acides hybrides; une expérience préliminaire d'incorporation de l'acide palmitique montrait que les fragments méromycoliques de ces acides pouvaient provenir de l'allongement de chaîne à partir de l'acide palmitique [*37*].

A la suite de ces expériences et de ces observations, nous avons proposé le schéma général suivant (voir schéma page 94) pour la biogenèse des acides mycoliques des Corynébactéries, Nocardia et Mycobactéries [*37, 64, 76 a* et *b*] :

Schéma simplifié de la biogenèse des acides mycoliques en général.

Les points d'interrogation indiquent l'emplacement des acides hypothétiques. Dans ce schéma nous faisons abstraction des groupements méthyles et des cycles propaniques.

lau : laurique; myr : myristique; pal : palmitique; ste : stéarique; tétra : tétracosanoïque; hexa : hexacosanoïque.

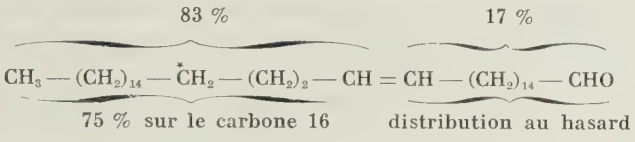


Ce schéma de biogenèse indique la formation des fragments méromycoliques en trois étapes et passage par deux relais qui se situeraient, le premier au niveau d'un acide gras « ordinaire » (acide palmitique et acide stéarique) et le deuxième au niveau d'un acide ayant autant d'atomes de carbone environ que les acides méronocardiques. La structure XVIII des acides α'_1-smegmamycoliques, élucidée par la suite, s'est révélée être conforme aux exigences de ce schéma qui a suscité d'autres expériences de vérification. Celles-ci, jointes à de nouvelles observations, ont abouti à un schéma de biogenèse reliant les différents types d'acides mycoliques de Mycobactéries.

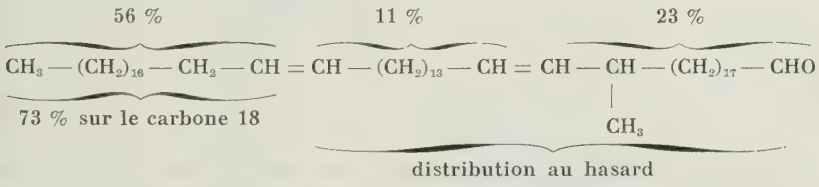
Schéma de biogenèse des différents types d'acides mycoliques de Mycobactéries

1° **Faits expérimentaux.** — *a*) Incorporation de l'acide palmitique dans les fragments méromycoliques des acides smegmamycoliques [77]. — Après introduction de l'acide palmitique 1-^{14}C dans le milieu de culture de *M. smegmatis*, les acides mycoliques sont radioactifs. L'étude a porté sur les acides α'-smegmamycoliques; les esters méthyliques de ces acides, purifiés, sont dégradés. On trouve une plus forte incorporation dans les

fragments méromycoliques que dans l'ester de pyrolyse; par dégradation plus poussée (ozonolyse, Schmidt-Phares, etc.) il a été constaté qu'un fort pourcentage de la radioactivité des fragments méromycoliques était localisé dans le carbone 16 (en comptant du bout méthyle) :



b) Incorporation de l'acide stéarique marqué dans les fragments méromycoliques des acides smegmamycoliques. — Dans cette expérience, de l'acide stéarique 1-^{14}C a été introduit dans le milieu de culture de *M. smegmatis* [*78*]; les acides α-smegmamycoliques sont radioactifs. On les dégrade : la pyrolyse montre que la plus forte radioactivité se trouve dans les fragments méromycoliques; par dégradation plus poussée (ozonolyse, Schmidt-Phares, etc.) on montre qu'un fort pourcentage de la radioactivité des fragments méromycoliques sont localisés sur le carbone 18 (en comptant du bout méthyle) :



c) Incorporation de la méthionine. — *Origine du groupement méthyle des acides α-smegmamycoliques.*

La structure des acides α-smegmamycoliques les plus abondants XVI comporte un groupement méthyle secondaire. Nous avons introduit un échantillon de méthionine -$^{14}CH_3$, dans le milieu de culture de *M. smegmatis* [72]. Les acides α-smegmamycoliques purifiés sont radioactifs. Par différentes dégradations (pyrolyse, ozonolyse, Kuhn-Roth) nous avons localisé la radioactivité dans le groupement méthyle secondaire de la molécule.

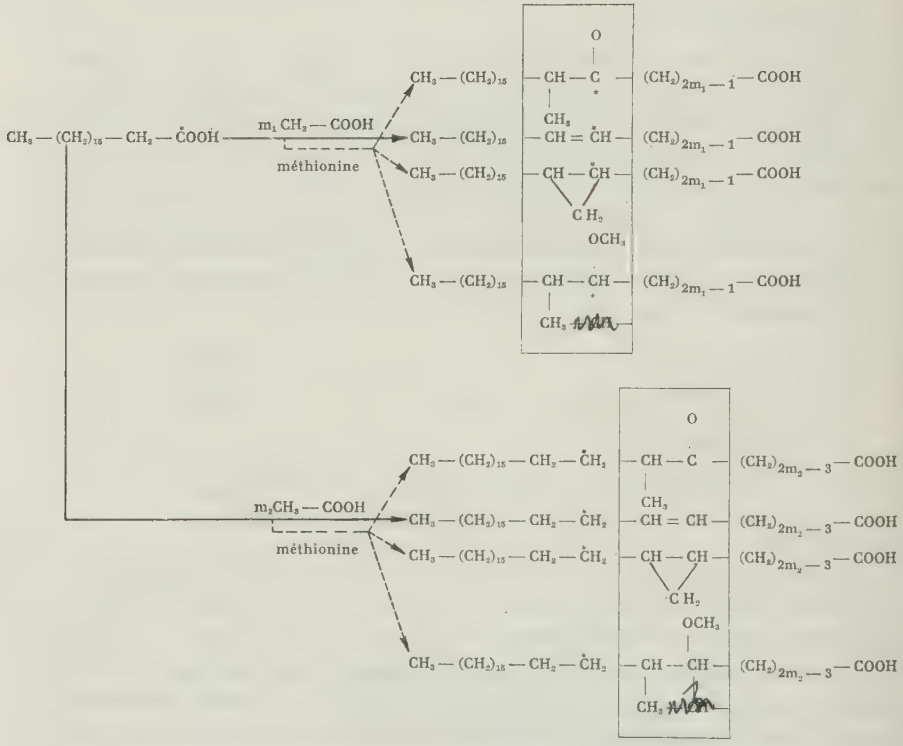
— *Origine des méthylènes des cycles propaniques des acides mycoliques.*

Dans cette expérience un échantillon de méthionine -$^{14}CH_3$ a été introduit dans le milieu de culture de *M. avium* [*56*]; des acides α-mycoliques radioactifs ont été isolés. La pyrolyse a montré que toute la radioactivité était localisée dans le fragment méromycolique et les résultats de Kuhn-Roth indiquent la localisation de la radioactivité dans les méthylènes.

2° **Faits d'observation.** — *a*) Par la comparaison de la structure du bout méthyle des composés tels que XVI, XXI, XXII, et XXIV il devenait de plus en plus clair que les différents types d'acides mycoliques devaient avoir une corrélation structurale et biogénétique [*63, 64*].

b) L'élucidation de la structure des acides mycoliques dicarboxyliques de *M. phlei* et l'accord de cette structure avec l'hypothèse de biogenèse

Schéma A.



Deuxième étape de la biogenèse des acides méromycoliques de différents types : à partir de l'acide stéarique; m_1 et m_2 = ... 8, 9 ...

formulée pour expliquer leur origine (voir plus loin) a renforcé l'idée de l'existence d'une corrélation structurale entre les acides mycoliques de différents types.

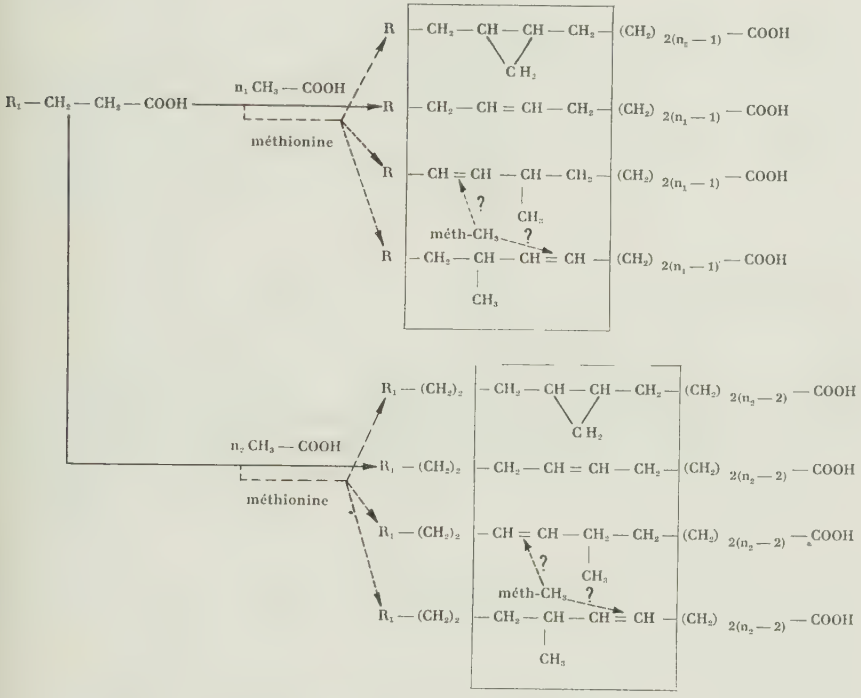
De l'ensemble de ces données nous avons dégagé les schémas de biogenèse suivants [*76 b*] [voir p. 96 et 97 (*)].

C'est la considération de ces schémas qui nous a permis de prévoir

(*) Un schéma de biogenèse où l'acide palmitique sert de « primer » au lieu de l'acide stéarique est également valable [voir *76 b*].

l'existence et la structure des acides mycoliques de type XV, de réviser la structure des acides mycoliques de type XXI, de rejeter, *a priori*, les structures XXIII et XXV pour deux autres types d'acides mycoliques.

Schéma B.



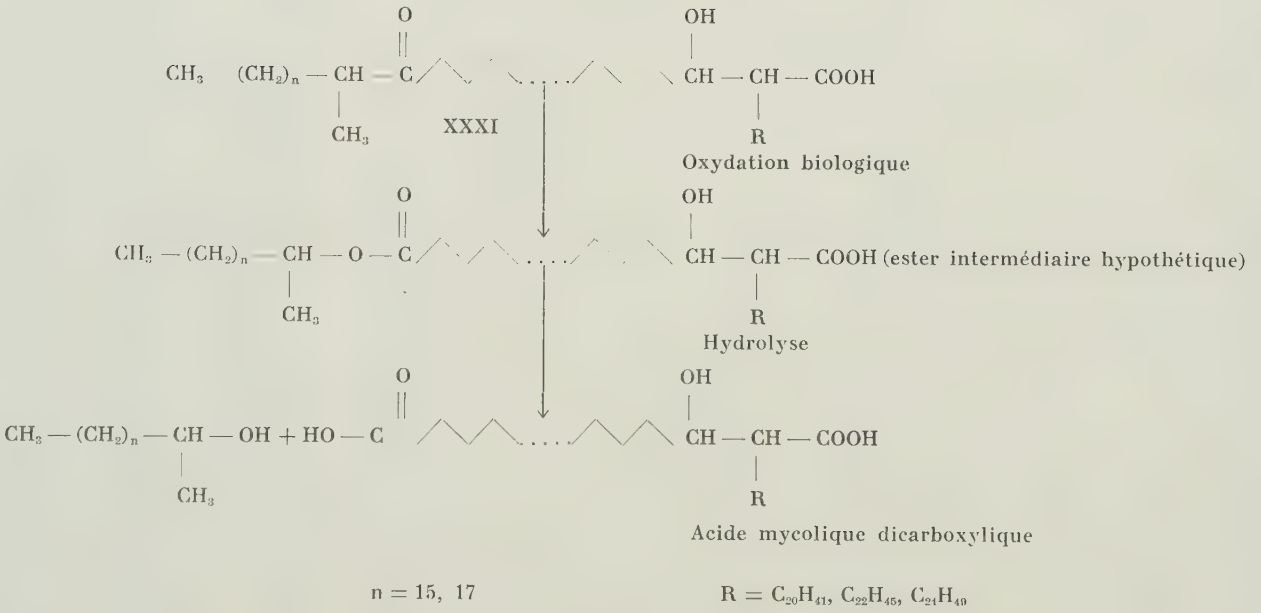
Troisième étape de la biogenèse des acides méromycoliques des Mycobactéries : à partir d'un acide de type méronocardique (R_1 = ... C_{21}, C_{23} ..., n_1 et n_2 = ... 8, 9, 10, 11 ...).

Biogenèse du 2-eicosanol et du 2-octadécanol isolés de différentes espèces de Mycobactéries

Considérant la structure partielle XXXI que nous avons déterminée pour les acides β-mycoliques de quelques espèces de Mycobactéries (*M. tuberculosis, var hominis, souche Test, M. kansasii et M. avium* [*53*] et la présence dans les lipides de Mycobactéries de méthylcarbinols tels que le 2-eicosanol et le 2-octadécanol [*7, 79-81*], d'une part, et des acides mycoliques dicarboxyliques, d'autre part, nous avons écrit le schéma de corrélation suivant (voir page 98) entre ces trois types de métabolites.

Si cette hypothèse était exacte deux corollaires devaient être vérifiés.

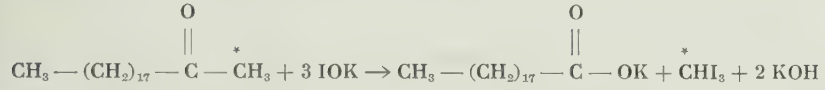
a) Les acides mycoliques dicarboxyliques devraient avoir autant d'atomes de carbone en moins par rapport aux acides β-mycoliques que


O
OH
CH3 (CH2)n — CH — C
CH3
XXXI
CH — CH — COOH
R
Oxydation biologique
CH3 — (CH2)n — CH — O — C
CH — CH — COOH (ester intermédiaire hypothétique)
Hydrolyse
CH3 — (CH2)n — CH — OH + HO — C
Acide mycolique dicarboxylique
n = 15, 17
R = C20H41, C22H45, C24H49

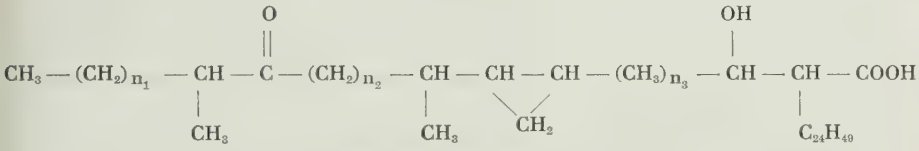
les méthylcarbinols en contiennent. Ce corollaire a été vérifié exact (voir la troisième partie).

b) Etant donné la corrélation entre les différents types d'acides mycoliques, le méthyle des groupements méthylcarbinols devrait provenir de la méthionine.

Or, dans une expérience où de la méthionine radioactive a été introduite dans le milieu de culture de *M. avium* [*64*] nous avons isolé du 2-eicosanol et du 2-octadécanol radioactifs; la dégradation suivante effectuée sur le 2-eicosanone, produit d'oxydation du 2-eicosanol, a permis de retrouver toute la radioactivité dans l'iodoforme, l'acide nonadécanoïque isolé n'a pas de radioactivité :



Les deux corollaires du schéma biogénétique étant vérifiés, on est en droit d'envisager une structure découlant de l'ensemble des schémas biosynthétiques pour les acides β-mycoliques. Dans le cas particulier des acides β-mycoliques de *M. tuberculosis* souche Test, le type de structure XXXII paraît probable; pour le représentant le plus abondant dans le mélange



$n_1 = 17,\ n_2 + n_3 = 34\ (n_2 = 16,\ n_3 = 18)$

XXXII

V. — INTÉRÊT TAXONOMIQUE ET SIGNIFICATION PHYLOGÉNÉTIQUE DES ACIDES MYCOLIQUES

Acides mycoliques et taxonomie de quelques genres d'Actinomycétales

Dans ce qui précède nous avons donné un court aperçu de l'état actuel de nos connaissances sur la structure et la biogenèse des acides mycoliques. Les premières études sur les acides mycoliques avaient déjà amené Asselineau et Lederer à conférer un intérêt taxonomique à ces acides [*26, 32*]. Le tableau suivant (p. 100), dû à Lederer [*32*], indique la voie de biogenèse des acides mycoliques par condensation de plusieurs unités

RAPPORT ENTRE LA TAXONOMIE ET LE NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE DES ACIDES MYCOLIQUES SELON LEDERER [32].

	NOMBRE DE SOUCHES ÉTUDIÉES	ATOMES DE CARBONE DES ACIDES MYCOLIQUES	ACIDE A PLUS LONGUE CHAINE NORMALE DES BACTÉRIES	BIOSYNTHÈSE
Corynébactéries	2	C_{32}	C_{16}	2×16
Nocardia	4	C_{50}	C_{18}	$2 \times 16 + 18$? 3×16 ?
Mycobacterium avium, smegmatis et *phlei*	6	C_{84}	C_{24}	$2 \times 24 + 2 \times 18$
M. tuberculosis, souches bovines et humaines.	12	C_{88}	C_{26}	$2 \times 26 + 2 \times 18$

TABLEAU TAXONOMIQUE PLUS RÉCENT [voir aussi *64*].

	NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE DES ACIDES MYCOLIQUES	NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE DES FRAGMENTS MÉROMYCOLIQUES	NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE DES ACIDES DE PYROLYSE
I. — CORYNÉBACTÉRIES			
C. diphtheriae [*21*]	C_{32}	C_{16}	C_{16}
C. ovis [*23*]	C_{32}	C_{16}	C_{16}
Corynebacterium 506 [*45*]	C_{32}, C_{34}	C_{16}, C_{18}	C_{14}, C_{56} et C_{18}
Corynebacterium 6.083-9 [*37*]..	C_{34}, C_{35}, C_{36}	C_{15} à C_{18}	C_{14} à C_{18}
C. rubrum [*37*]	C_{28} à C_{46}	C_{17} à C_{30}	C_{12} à C_{16}
II. — NOCARDIA			
N. astéroïdes [*47*]	C_{46} à C_{54}	C_{32}, C_{34}, C_{36} et C_{38}	C_{14} et C_{16}
N. opaca [*48*]	C_{44} à C_{50}	C_{32} à C_{38}	C_{10}, C_{12} et C_{14}
N. brasiliensis [*74*]	$C_{50} \pm 3\ CH_2$	C_{32} — C_{36}	C_{11}, C_{16} et C_{18}
III. — MYCOBACTÉRIES			
M. smegmatis [*44*]	C_{74} ... C_{79} ... C_{81}	C_{50} ... C_{55} ... C_{57}	C_{24}
M. kansasii [*51, 55*]	C_{78}, C_{80} et C_{82}	C_{54}, C_{56} et C_{58}	
M. avium [*56*]	C_{78}, C_{80}, C_{82} et C_{84}	C_{54}, C_{56}, C_{58} et C_{60}	C_{24}
M. tuberculosis [*41 b, 54*] (souche Test)	C_{78}, C_{80}, C_{82} et C_{84}	C_{52}, C_{54}, C_{56}, C_{58}	C_{20}

Les chiffres en italiques indiquent les représentants dominants dans le mélange. La plupart des chiffres sont basés sur les résultats de spectrométrie de masse.

d'acides gras; nous avons vu que cette hypothèse n'est pas vérifiée, mais il comprend aussi la corrélation entre le nombre global d'atomes de carbone des acides mycoliques et la taxonomie des bactéries qui les contiennent.

Nos observations plus récentes sont en faveur de l'attribution d'une signification taxonomique aux acides mycoliques. Le tableau précédent (p. 100), résumant essentiellement quelques-uns de nos propres résultats et quelques-unes des observations d'autres auteurs, montre en effet, que le nombre d'atomes de carbone des acides mycoliques oscille autour de 32 à 36 pour les Corynébactéries, de 50 à 54 pour les Nocardia et de 74 à 84 pour les Mycobactéries (*).

Quelques remarques peuvent être faites au sujet des données rapportées dans ce tableau.

a) *C. rubrum* constitue un cas particulier; le nombre d'atomes de carbone des acides mycoliques est ici très variable.

b) On constate la variabilité de l'acide de pyrolyse des Nocardia qui est, en général et de façon prédominante, l'acide palmitique; dans le cas de *N. opaca,* pourtant, l'acide laurique forme l'acide de pyrolyse le plus abondant.

c) En rapport avec la nature des acides de pyrolyse il est intéressant de rappeler que chez *N. opaca* l'acide gras saturé le plus abondant dans les lipides est l'acide isopentadécanoïque et que l'acide linéaire et saturé le plus abondant est l'acide palmitique [*48*]; or, ni l'un ni l'autre de ces acides ne forment les acides de pyrolyse des acides nocardiques ce qui révèle la grande discrimination opérée par les enzymes de synthèse de ces derniers. La meilleure explication pour cette discrimination paraît être une compartimentation au sein de l'unité bactérienne. L'observation de la structure XIII semble indiquer que la genèse des fragments méronocardiques des acides nocardiques de *N. opaca* procède par allongement de chaîne à partir de l'acide laurique ou myristique et ceci par un mécanisme semblable à celui que nous avons mis en évidence dans la genèse des acides mycoliques de Mycobactéries (voir aussi plus loin).

d) Une discrimination particulière s'opère également dans la genèse des acides mycoliques des Mycobactéries; ici également, alors que les acides linéaires les plus abondants sont l'acide palmitique et l'acide stéarique qui servent dans la genèse des fragments méromycoliques, ce sont les acides tétracosanoïque et hexacosanoïque qui sont utilisés de façon presque exclusive (**) dans la genèse de la ramification en α du carboxyle de ces acides.

(*) Nous avons considéré ici les acides α-mycoliques.

(**) Quelquefois c'est l'acide béhénique qui est également utilisé comme c'est le cas dans *M. phlei.*

Acides mycoliques et phylogenèse de quelques genres d'Actinomycétales

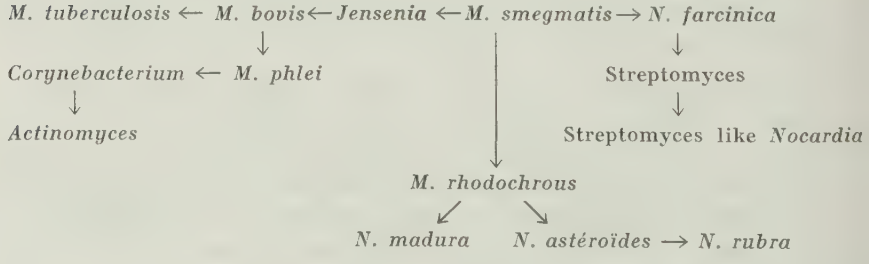
Mais, si les observations précédentes révèlent la finesse et la complexité des processus de la biogenèse des acides mycoliques et rendent compte de la variabilité de composé à l'intérieur de chaque genre bactérien étudié, quelques autres observations telles que l'existence de la palmitone et de l'hentriacontanol-16 chez les Nocardia ou l'existence des acides mycoliques en « C_{60} » chez les Mycobactéries, semblent indiquer la parenté génétique des Corynébactéries, des Nocardia et des Mycobactéries. Pour expliquer les faits cités nous avons eu déjà l'occasion de suggérer que « l'aptitude à la condensation mycolique apparaîtrait au cours de l'évolution de micro-organismes chez une « cellule mère » de laquelle dériveraient les premières Corynébactéries et puis successivement les Nocardia et les Mycobactéries » [*37*].

Des publications de plus en plus nombreuses paraissent qui tendent à rechercher des corrélations entre les Actinomycétales ou d'en classer les divers représentants dans tel ou tel genre.

Cummins et Harris, par l'étude de la structure chimique et des propriétés antigéniques des parois cellulaires des Corynébactéries, des Nocardia et des Mycobactéries [*82, 83*], sont les premiers à être arrivés à la conclusion que ces trois genres bactériens doivent avoir une corrélation taxonomique.

Asselineau, en se basant sur ces données, ainsi que sur la structure de l'acide corynomycolique de *C. diphtheriae* et de *C. ovis,* confirme la parenté entre les genres *Corynebacterium* et *Mycobacterium* [*84*]. Reprenant les techniques de Cummins et Harris, Becker, Lechevalier et Lechevalier retrouvent de leur côté la similitude de la paroi cellulaire des Nocardia et des Mycobactéries [*85*].

Schéma de Kwapinski [*86*] pour l'évolution des Actinomycétales.



Kwapinski [*86*], par l'étude des relations sérologiques des antigènes cytoplasmiques propose un schéma de « l'évolution antigénique et probablement biologique » des Actinomycétales. Selon le schéma donné par cet auteur une position centrale serait occupée par *M. smegmatis.* Ce

dernier aurait évolué indifféremment vers les Nocardia ou d'autres Mycobactéries; une Mycobactérie (*M. phlei*) aurait évolué vers les Corynébactéries, etc.

D'autres techniques que celles mentionnées ci-dessus ont été utilisées pour montrer l'existence d'une corrélation particulièrement entre les Mycobactéries et d'autres Actinomycétales. Manion et collaborateurs [*87*] ont utilisé le test de la sensibilité aux bactériophages. Cette étude a notamment permis de rapprocher une souche de *M. rhodochrous* des Nocardia.

Castelnuovo et collaborateurs [*88*], en utilisant des tests antigéniques, sérologiques et la sensibilité aux phages, sont arrivés également à la conclusion que certaines souches de *M. rhodochrous* et de *M. pellegrino* devraient être classées parmi les Nocardia. Ces intéressants travaux ont eu pour objet principal de rechercher les similitudes, les différences et les corrélations parmi les différentes bactéries appartenant à tel ou tel genre d'Actinomycétales. Notre travail tend à souligner l'état évolutif des genres étudiés, ce qui permettrait d'expliquer certaines difficultés de classification pour les bactéries qui, ne se souciant pas de notre légitime désir de schématisation, se trouveraient à un stade quelconque d'évolution et qui auront subi des modifications plus ou moins profondes selon leur histoire et leur vie.

En rapport avec ces considérations, il est intéressant de noter que le traité de Bergey [*89*] ne classe pas les Corynébactéries parmi les Actinomycétales mais parmi les Eubactériales, alors que le traité de Prévot [*90*] admet leur classement dans les Actinomycétales.

CLASSIFICATION DES ACTINOMYCÉTALES.

Selon le traité de Bergey [*89*]

Ordre des Actinomycétales

Famille I. — *Mycobacteriaceae.*
Genre I : *Mycobacterium.*
Genre II : *Micrococcus.*

Famille II. — *Actinomycetaceae.*
Genre I : Nocardia.
Genre II : Actinomyces.

Famille III. — *Streptomycetaceae.*
Genre I : Streptomyces.
Genre II : Micromonospora.
Genre III : Thermoactinomyces.

Famille IV. — *Actinoplanaceae.*
Genre I : Actinoplanes.
Genre II : Streptosporangium.

Selon le traité de Prévot [*90*]

Classe des Actinomycétales

Ordre I. — Actinobactériales

Famille I. — *Sphaerophoraceae.*
(5 genres)

Famille II. — *Actinomycetaceae.*
Genre I : Nocardia.
Genre II : Actinomyces.
Genre III : Corynébactéries.

Famille III. — *Streptomycetaceae.*
Genre I : Streptomyces.
Genre II : Micromonospora.
Genre III : Thermoactinomyces.

Famille IV. — *Actinoplanaceae.*
Genre I : Actinoplanes.
Genre II : Streptosporangium.

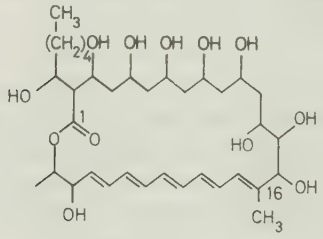
Ordre II. — Mycobactériales.

Famille. — *Mycobacteriaceae.*
Genre : *Mycobacterium.*

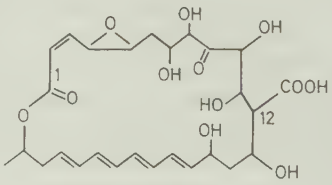
Les acides mycoliques existent-ils chez d'autres genres d'Actinomycétales ?

Dans ce qui précède nous avons envisagé trois genres bactériens mais si on peut attribuer un intérêt taxonomique aux acides mycoliques et si on peut leur attacher une signification du point de vue de la phylogenèse de certains genres d'Actinomycétales, on a alors le droit de se demander si d'autres genres de ces bactéries ne contiendraient pas également des acides mycoliques : aucun résultat, dans ce sens, n'est encore rapporté dans la littérature, les auteurs qui ont analysé les acides gras des Streptomyces, par exemple [*91, 92*], n'y signalent la présence d'aucun de ces acides. Néanmoins, des métabolites ont été trouvés, apparemment fort éloignés des acides mycoliques et dont la biogenèse, pourtant, doit comporter une étape de condensation mycolique; c'est le cas des macrolides, antibiotiques fongicides isolés des Streptomyces; la lagosine [*93*], la filipine [*94-96*], la rimocidine [*97*], la fongichromine [*98*], etc., font partie de ces antibiotiques. La genèse de la filipine XXXIII, par exemple, doit comporter une étape de condensation d'une unité en C_8 et d'une unité en C_{27} (ou d'une unité en C_6 et d'une unité en C_{29}) [*64, 76 a* et *b*] :

Schéma 2.



XXXIII

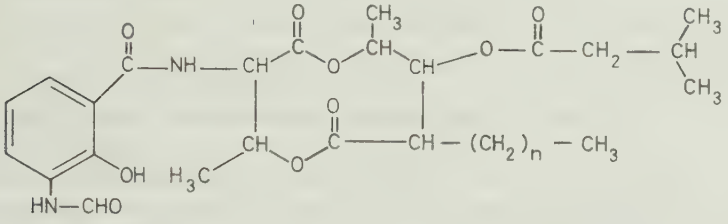


XXXIV

De tels composés lactones α-ramifiés, β-hydroxylés peuvent, en effet, être considérés comme des esters internes d'acides mycoliques dont une des ramifications est fortement insaturée et hydroxylée [*64, 76 a* et *b*]. On a pu penser [*94*] que l'origine (propionate ou formiate) de deux carbones de la filipine reste à déterminer; il semble que seule celle du groupement méthyle porté par le carbone insaturé (C_{16}) reste à préciser : les deux chaînes qui entrent en condensation mycolique devant se rallonger à partir de l'acide acétique. A cet égard la comparaison avec la formule de la pimaricine XXXIV [*99*] est instructive; dans ce composé, le groupement méthyle est remplacé par un carboxyle (sur C_{12}); il est intéressant de noter que la lactone, dans ce cas, est en C_{27}, comme si, en comparaison avec la filipine XXXIII, la dernière condensation avec une unité en C_8 avait manqué.

Rappelons qu'il y a d'autres antibiotiques de Streptomyces où des acides en C_6 et C_8 sont apparemment condensés avec d'autres acides; c'est le cas des Antimycines A pour les représentants desquels la structure XXXV est proposée [*100, 101*] :

Schéma 3.



XXXV n = 3 ou 5

Des acides mycoliques existent-ils chez d'autres bactéries que les Actinomycétales ?

Aucune observation tendant à montrer l'existence éventuelle d'acides mycoliques chez les Eubactériales n'est encore rapportée. En rapport avec la genèse des fragments méromycoliques des acides mycoliques, il est un fait qui mérite d'être discuté. K. Bloch et collaborateurs [*102*] ont montré que chez *Clostridium butyricum* la biogenèse des acides Δ_7 et Δ_9 hexadécénoïques, ainsi que celle des acides Δ_9 et Δ_{11} octadécénoïques procèdent par allongement de chaîne à partir des acides octanoïque et décanoïque, l'insaturation survient par déshydratation en β-γ d'un acide β-hydroxylé, intermédiaire présumé, formé après la condensation de la première (ou de la deuxième) unité acétique. Cette « voie anaérobie » diffère de la « voie aérobie » où un acide insaturé est formé par oxydation de l'acide saturé correspondant et par l'utilisation de l'oxygène moléculaire [*103 a* et *b*]; une telle voie a été observée, par exemple, chez *M. phlei* pour la synthèse de l'acide oléique.

Or la genèse des acides mycoliques comporte l'allongement de chaîne à partir des acides palmitique et stéarique et dans les catégories d'acides insaturés telles que XVI la double liaison proche du bout méthyle s'introduit par une voie analogue à celle qui existe pour les acides hexadécénoïque et octadécénoïque chez *Cl. butyricum;* c'est d'ailleurs en admettant qu'une telle voie de formation de double liaison opérerait une deuxième fois dans la genèse des acides mycoliques de la catégorie XVI que nous avons prévu la structure de leurs précurseurs hypothétiques XV (*) [*78*]. Il est remarquable que chez *Cl. butyricum* les acides insaturés formés par un mécanisme anaérobie peuvent subir une

(*) Les deux doubles liaisons de ces acides sont cis, les cycles propaniques des acides de type XXI sont également cis; pour les données concernant d'autres acides, voir référence *76 b*.

« méthylénation » pour donner naissance à des acides à cycle propanique. Les travaux de Hofmann et collaborateurs et d'autres auteurs [*105-110*] ont montré que le méthylène de ce cycle trouve son origine dans la méthionine. Or l'origine des cycles propaniques des acides mycoliques est également la méthionine [*56*] et chez *M. phlei* nous avons trouvé en même temps des acides mycoliques di-insaturés de type XV et des acides mycoliques comportant deux cycles propaniques de type XXI [*58*].

On voit donc que si les acides mycoliques n'ont pas été rencontrés chez les Eubactériales, les mécanismes qui régissent la genèse de leurs fragments méromycoliques se trouvent, sous une forme plus simple, chez ces bactéries. On peut alors se demander si l'existence des voies de biogenèse si semblables ne refléterait pas, de manière indirecte, une certaine corrélation phylogénétique; cette suggestion défiant toute classification admise des bactéries s'impose pourtant, tout naturellement, à l'esprit.

Des acides mycoliques existent-ils chez d'autres êtres vivants que les bactéries ?

Là encore aucune information n'est disponible. Pourtant le principe même de la condensation de deux unités d'acides gras, ce qui est appelé aujourd'hui la condensation mycolique, a été prévu par Channon et Chibnall ([*33*], voit aussi [*34*]) pour expliquer la genèse de certains alcanes et cétones chez les plantes. Les premières expériences de Kolattukudy [*111*] ont apporté des preuves en faveur de cette hypothèse alors que ses expériences plus récentes [*112*] semblent l'infirmer. Il serait bon, néanmoins, de poursuivre les études pour arriver à une conclusion définitive. Rappelons, à ce propos, que la corrélation de cétones telles que la palmitone ou d'alcools tels que l'hentriacontanol-16, et des cétones et alcools lourds rencontrés chez les Nocardia [*113, 114*] et les Mycobactéries [*115*] avec les acides mycoliques correspondants ne semble pas faire de doute [*22, 37, 115*].

CONCLUSIONS

Des études sur la structure et la biogenèse des acides mycoliques semblent confirmer l'existence d'une corrélation phylogénétique, entre les Corynébactéries, les Nocardia et les Mycobactéries et tendent à indiquer un sens déterminé pour l'évolution de ces bactéries.

Un schéma de corrélation structurale et biogénétique reliant entre eux les différents types d'acides mycoliques connus des Mycobactéries a été dégagé; ce schéma, en retour, a été d'une grande utilité pour la détermination de structure de certains types de ces acides.

Des considérations phylogénétiques amènent à rapprocher certains macrolides, antibiotiques fongicides isolés de Streptomyces, tels que la lagosine, la filipine, la rimocidine et la fongichromine, des acides mycoliques : on peut en effet les considérer comme des esters internes d'acides formés eux-mêmes par une condensation mycolique.

A l'occasion de l'étude de la biogenèse des acides mycoliques, une nouvelle voie métabolique a été mise en évidence chez les Mycobactéries pour les acides palmitique et stéarique qui subissent un allongement de chaîne par un mécanisme semblable à celui qui a été mis en évidence par K. Bloch et collaborateurs pour les acides octanoïque et décanoïque chez *Clostridium butyricum*.

Il a été par ailleurs proposé qu'un tel mécanisme qui comporte une déshydratation en β-γ d'un acide β-hydroxylé, intermédiaire présumé, se répéterait deux fois sur la voie de la genèse des fragments méromycoliques des acides mycoliques di-insaturés linéaires dont la présence, comme précurseurs de certains acides mycoliques (comportant des cycles propaniques ou des ramifications méthyles) a été d'abord prévue par cette hypothèse de biogenèse et ensuite démontrée.

La frappante similitude de mécanismes biogénétiques des acides insaturés de *Cl. butyricum* et de ceux de *M. smegmatis* ainsi que le fait que dans un cas comme dans l'autre les insaturations peuvent servir de cibles à la « méthylénation » suggèrent l'existence possible d'une corrélation phylogénétique lointaine entre les genres bactériens qui comprennent ces micro-organismes.

Bibliographie

[1] Anderson R. J. : *J. Biol. Chem.*, 1929, **85**, 351. — [2] Stodola, F. H., Lesuk A. et Anderson R. J. : *J. Biol. Chem.*, 1938, **126**, 505. — [3] Lesuk A. et Anderson R. J. : *J. Biol. Chem.*, 1940, **136**, 603. — [4] Anderson R. J., Reeves R. E. et Stodola F. H. : *J. Biol. Chem.*, 1937, **121**, 649. — [5] Cason J. et Anderson R. J. : *J. Biol. Chem.*, 1938, **126**, 527. — [6] Peck R. L. et Anderson R. J. : *J. Biol. Chem.*, 1941, **140**, 89. — [7] Anderson R. J., Crowder J. A., Newman N. S. et Stodola F. H. : *J. Biol. Chem.*, 1936, **113**, 637. — [8] Anderson R. J. et Creighton M. M. : *J. Biol. Chem.*, 1939, **129**, 57. — [9] Choucroun N. : *C. R. Acad. Sci.*, 1946, **223**, 104. — [10] Choucroun N. : *Amer. Rev. Tuberc.*, 1947, **56**, 203.

[11] Choucroun N. : *C. R. Acad. Sci.*, 1939, **208**, 1757. — [12] Choucroun N. : *C. R. Acad. Sci.*, 1940, **223**, 104. — [13] Raffel S. : *Amer. Rev. Tuberc.*, 1946, **54**, 564. — [14] Raffel S., Arnaud L. E., Dukes C. D. et Huang J. S. : *J. exp. Med.*, 1949, **90**, 53. — [15] Choucroun N. : *C. R. Acad. Sci.*, 1948, **226**, 1477. — [16] Asselineau J. : *C. R. Acad. Sci.*, 1949, **229**, 791. — [17] Asselineau J., Choucroun N. et Lederer E. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1950, **5**, 197. — [18] Asselineau et Lederer E. : *C. R. Acad. Sci.*, 1949, **228**, 1892. — [19] Asselineau J. : *C. R. Acad. Sci.*, 1950, **230**, 887. — [20] Asselineau J. et Lederer E. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1951, **7**, 153.

[21] Lederer E., Pudles J., Barbezat S. et Trillat J. J. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1952, **19**, 93. — [22] Lederer E. et Pudles J. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1954, **36**, 759. — [23] Diara A. et Pudles J. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1959, **41**, 481. — [24] Michel G., Bordet C. et Lederer E. : *C. R. Acad. Sci.*, 1960, **250**, 3518. — [25] Asselineau J. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1960,

135. — [26] Asselineau J. : *Les Lipides batériens*, 1962, Hermann, Paris. — [27] Morgan E. D. et Polgar N. : *J. Chem. Soc.*, 1957, 3779. — [28] Malani C. et Polgar N. : *J. Chem. Soc.*, 1963, 3092. — [29] Asselineau C. et Asselineau J. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1960, 1776. — [30] Malani C., Minnikin D. E. et Polgar N. : *J. Chem. Soc.*, 1965, 5562.

[31] Asselineau J. et Lederer E. : Dans K. Bloch, Ed. : *Lipide Metabolism*, John Wiley and Sons Inc., New York, London, 1960, 336-406. — [32] Lederer E. : *VII^e Corso Estivo di Chimica, Milan*, 1952. Accademia Nazionale del lincei, Rome, 1964, 159-179. — [33] Channon H. J. et Chibnall A. C. : *Biochem. J.*, 1929, **23**, 168. — [34] Eglinton G. et Hamilton R. J. : Dans T. Swain, Ed. *Chemical Plant Taxonomy*, Academic Press, New York, 1963, 187-217. — [35] Gastambide-Odier M. et Lederer E. : *Biochem. Z.*, 1960, **333**, 285. — [36] Stenhagen E. : *Cité dans la référence 26* (page 79). — [37] Etémadi A. H. : Sur la structure et la biogenèse des acides mycoliques des Corynébactries, Nocardia et Mycobactéries, *Thèse de Doctorat d'Etat ès sciences, Paris*, 1965. — [38] Anderson R. J. : *Fortschr. Chem. Organ. Naturst.*, 1939, **3**, 145. — [39] Etémadi A. H. : *Chem. Phys. Lipids*, 1967, **1**, 165. — [40] *a*) Asselineau C., Asselineau J. et Tocanne G. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1966, 1992; *b*) Minnikin D. E. et Polgar N. : *Chem. Commun.*, 1966, 648.

[41] *a*) Etémadi A. H. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1964, 1537; *b*) Etémati A. H. : Colloque sur la chromotographie pyrolytique et la chromatochimie. Ecole Polytechnique, Paris, octobre 1966. *J. Gas Chromatog.* (sous presse). — [42] Kunesch G., Ferluga J. et Etémadi A. H. : *Chem. Phys. Lipids*, 1966, **1**, 41. — [43] Asinger F. : *Ber.*, 1942, **75**, 656. — [44] Etémadi A. H., Okuda R. et Lederer E. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1964, 868. — [45] Etémadi A. H., Gasche J. et Sifferlen J. : *Bull. Soc. Chim.* 1965, **47**, 631. — [46] Etémadi A. H. et Lederer E. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1965, **47**, 107. — [47] Bordet C., Etémadi A. H., Michel G. et Lederer E. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1965, 234. — [48] Etémadi A. H., Markovits J. et Pinte F. : *C. R. Acad. Sci.*, 1966, **263**, sér. D, 835. — [49] Etémadi A. H. et Pinte F. : *Résultats inédits*. — [50] Etémadi A. H., Pinte F. et Markovits J. : C. R. *Acad. Sci.*, 1966, **262**, sér. C, 1343.

[51] Etémadi A. H., Pinte F. et Markovits J. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1967, 195. — [52] Krembel J. et Etémadi A. H. : *Tetrahedron*, 1966, **22**, 1113. — [53] Etémadi A. H. et Torquebiau O. : *Résultats inédits*. — [54] Etémadi A. H. et Lederer E. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1965, 2640. — [55] Etémadi A. H., Miquel A. M., Lederer E. et Barber M. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1964, 3274. — [56] Walczak E. et Etémadi A. H. : *C. R. Acad. Sci.*, 1965, **261**, 2771. — [57] Etémadi A. H. : *Résultats inédits*. — [58] Lamonica G. et Etémadi A. H. : *Résultats inédits*. — [59] Convit J. et Etémadi A. H. : *Résultats inédits* — [60] Etémadi A. H. : *C. R. Acad. Sci.*, 1966, **263**, sér. D, 1257.

[61] Minnikin D. E. et Polgar N. : *Tetrahedron Letters*, 1966, 2643. — [62] Etémadi A. H. : *Deuxième sujet de thèse de Doctorat d'Etat ès sciences Paris*, 1965. — [63] Etémadi A. H. et Gasche J. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1965, **47**, 2095. — [64] Etémadi A. H. : Colloque sur la chimiotaxinomie, Muséum d'Histoire Naturelle, octobre 1965. *Bull. Soc. Bot. France* (*mémoires*), 1965, 47-74. — [65] Clermonté R. et Lederer E. : *C. R. Acad. Sci.*, 1956, **242**, 200. — [66] Miquel A. M., Demarteau-Ginsburg H. et Asselineau J. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1963, **47**, 715. — [67] Laneelle G. : *C. R. Acad. Sci.*, 1963, **257**, 781. — [68] Markovits J., Pinte F. et Etémadi A. H. : *C. R. Acad. Sci.*, 1966, **263**, 960. — [69] Pinte F., Markovits J. et Etémadi A. H. : *Résultats inédits*. — [70] Kanemasa Y. et Goldman D. S. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, **98**, 476.

[71] Etémadi A. H. et Lederer E. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, **98**, 160. — [72] Cristol S. J. et Fritz W. G. Jr. : *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 280. — [73] Bordet C. et Michel G. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1964, **46**, 1101. — [74] Laneelle M. A., Asselineau J. et Castelnuovo G. : *Ann. Inst. Pasteur*, 1965, **108**, 69. — [75] Bordet C. et Michel G. : *Communication personnelle*. — [76] *a*) Etémadi A. H. : *IV^e Congrès d'I.U.P.A.C., Stockholm 1966, Abstract Book*, p. 188; *b*) Etémadi A. H. : Colloque sur les aspects biochimiques de

la phylogenèse, Montpellier, octobre 1966. Corrélations structurales et biogénétiques des acides mycoliques en rapport avec la phylogenèse de quelques genres d'Actinomycétales. *Bull. Soc. Chim. Biol.* (sous presse). — [77] KREMBEL J. et ETÉMADI A. H. : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1966, **48**, 67. — [78] ETÉMADI A. H. et PINTE F. : *C. R. Acad. Sci.*, 1966, **262**, sér. D, 1151. — [79] PANGBORN M. C. et ANDERSON R. J. : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1936, **58**, 10. — [80] REEVES R. H. et ANDERSON R. J. : *J. Amer Chem. Soc.*, 1937, **59**, 858.

[81] TOUBIANA R. et ASSELINEAU J. : *Résultats inédits* (cité dans 26). — [82] CUMMINS C. S. et HARRIS H. : *J. Gen. Microbiol.*, 1958, **18**, 173. — [83] CUMMINS C. S. : *J. Gen. Microbiol.*, 1962, **28**, 35. — [84] ASSELINEAU J. : Composition de la partie périphérique du bacille tuberculeux. *Colloque International sur les Mycobactéries* (4, 5 et 6 décembre 1959). — [85] BECKER B., LECHEVALIER M. P. et LECHEVALIER H. A. : *Appl. Microbiol.*, 1965, **13**, 236. — [86] KWAPINSKI J. B. : *J. Bacteriol.*, 1964, **87**, 1234. — [87] MANION R. E., BRADLEY S. B., ZINNEMAN H. H. et HALL W. H. : *J. Bacteriol.*, 1964, **87**, 1056. — [88] CASTELNUOVO G., BELLEZA G., DUNCAN M. E. et ASSELINEAU J. : *Ann. Inst. Pasteur*, 1964, **107**, 828. — [89] BREED R. S. et MURRAY E. D. G. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams and Willkins Co., Baltimore, 1957. — [90] PRÉVOT A. R. : *Traité de systématique bactérien*. Dunod, Paris, 1961.

[91] BALLIO A., BARCELLONA S. et BONIFORTI L. : *Biochem. J.*, 1965, **94**, 11 C. — [92] HOFHEINZ W. et GRISEBACH H. : *Z. Naturforsch*, 1965, **20** *b*, 43. — [93] DAHR M. L., THALLER V. et WHITING M. C. : *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 310. — [94] DJERASSI C., SHIKAWA M., BUDZIKIEWIEZ H., SHOOLERY J. N. et JOHNSON L. F. : *Tetrahedron Letters*, 1961, 383. — [95] DHAR M. L., THALER V. et WHITING M. C. : *J. Chem. Soc.*, 1964, 842. — [96] CEDER O. et RYHAGE R. : *Acta Chem. Scand.*, 1964, **18**, 558. — [97] COPE A. C., BURROWS E. P., DERIEG M. E., MOON S. et WIRTH W. D. : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1965, **87**, 5452. — [98] COPE A. C., BLY R. K., BURROWS E. P., CEDER O. J., CIGANEK E., GILLIS B. T., PORTER R. F. et JOHNSON D. E. : *J. Amer. Chem. Soc.*, 1962, **84**, 2170. [99] CEDER O. : *Acta Chem. Scand.*, 1964, **18**, 126. — [100] BIRCH A. J., CAMERON D. W., RICHARDS R. W. et HARADA Y. : *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 22.

[101] UTSU K., KATO H., KUMAHE K. et HARADA Y. : *J. Antibiotics* (*Tokyo*), 1961, sér. A 14, 205. Cf. : C.A. 57, 16524 i, 1962. — [102] SCHEUERBRANDT G., GOLDFINE H., BARONOWSKY P. E. et BLOCH K. : *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, P.C. 70. — [103] *a*) BLOOMFIELD D. K. et BLOCH K. : *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 337; *b*) LENNARZ W. J., SCHEUERBRANDT G. et BLOCH K. : *J. Biol. Chem.*, 1962, **237**, 664. — [104] O'LEARY W. M. : *J. Bacteriol.*, 1959, **77**, 367. — [105] HOFMANN K. et LIU T. Y. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, **37**, 364. — [106] LIU T. Y. et HOFMANN K. : *Feder. Proc.*, 1960, **19**, 227. — [107] CHALK K. J. I. et KODICEK E. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, **50**, 579. — [108] POHL S., LAW J. H. et RYHAGE R. : *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, **70**, 583. — [109] O'LEARY W. M. : *J. Bacteriol.*, 1962, **84**, 967. — [110] HOFMANN K. : *Fatty acid metabolism in microorganisms*, John Wiley and Sons Inc., New York, London, 1963.

[111] KOLATTUKUDY P. E. : *Biochemistry*, 1965, **4**, 1884. — [112] KOLATTUKUDY P. E. : *Biochemistry*, 1965, **2**, 1844. — [113] MICHEL G. et LEDERER E. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1962, 651. — [114] BORDET C. et MICHEL G. : *C.R. Acad. Sci.*, 1966, **262**, sér. C, 1810. — [115] MIQUEL A. M., DAS B. C. et ETÉMADI A. H. : *Bull. Soc. Chim. France*, 1966, 2342.

Vu, le Doyen :
G. Brouet.

Vu, le Président :
J. Polonovski.

Vu et permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
J. Roche.